



18º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Internacionalização da Ciência

De 07 a 09 de novembro de 2012



Ciências Biológicas

Código:2012841

Análise da expressão da proteína TcPR-10 na interação resistente e suscetível de cacau- *Moniliophthora perniciosa*.

Edson Mario de Andrade Silva¹, Fabienne Micheli², Sara Pereira Menezes³

¹ Discente do Curso de Ciências Biológicas DCB/UESC, e-mail: mariodeandradee@gmail.com, ² Docente do Curso de Ciências Biológicas DCB/UESC e Pesquisadora do Cirad (França), e-mail: fabienne.micheli@cirad.fr, ³ Discente do PPGGBM da UESC (doutorado), e-mail: menezes_sp@yahoo.com.br

A doença vassoura de bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* devastou plantações de cacau levando às mudanças econômicas, sociais e ambientais no sul da Bahia. Estudos moleculares da interação cacau-*M. perniciosa* revelou genes diferencialmente expressos envolvidos em eventos biológicos relacionados à patogênese. Entre os genes está o que codifica para a proteína relacionada à patogênese, classe 10 (TcPR-10). Esta proteína tem um potencial biotecnológico promissor, porque age *in vitro* como ribonuclease e apresenta atividade antifúngica. Análise da expressão de genes por RT-qPCR mostra que TcPr-10 tem sua expressão aumentada em plantas suscetíveis (Catongo) inoculadas com *M. perniciosa* nos estágios finais da infecção, enquanto que, no início não difere do controle. No entanto, a detecção de mRNA não fornece muitas evidências da presença da proteína. O objetivo deste trabalho foi analisar, por *Western blot*, a expressão da proteína TcPR-10 em meristemas e folhas de plantas de cacau resistente (TSH1188) e suscetível (Catongo) inoculadas com *M. perniciosa*. Meristemas apicais de plantas com 20-30 dias de idade, foram inoculados com uma suspensão de basidiósporos e mantidos em câmara úmida por 24 horas. As amostras foram coletadas em 24h, 48h, 72h, 15, 30, 60 e 90 dias após a inoculação (DAI). As amostras foram liofilizadas, trituradas em N₂ líquido e homogeneizadas em 100 mM Tris-HCl (pH 8,8) contendo 50 mM de ácido ascórbico, 1% (v/v) de β -mercaptoetanol, 0,1% (m/v) de Triton-X e 2% (m/v) de polivinilpirrolidona. As proteínas foram precipitadas com solução TCA/acetona seguido de extração com fenol/SDS. A dosagem das proteínas foi feita utilizando o 2D-Quant-Kit (GEHealthCare®). As proteínas foram separadas por SDS-PAGE e transferidas para membrana de nitrocelulose, a qual foi incubada com anticorpos produzidos em coelho contra a TcPR-10. A imunodeteção foi realizada com o 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato e nitroazul de tetrazólio (BCIP/NBT, Promega®). A TcPR-10 foi expressa em meristemas inoculados de ambas variedades estudadas após o ponto 30 DAI, no entanto, apresenta diferença no nível de expressão. Aos 30 DAI a proteína é mais expressa na variedade resistente enquanto aos 90 DAI a expressão é maior na variedade suscetível. Verificou-se ainda a expressão em folhas de TSH1188 com 60 DIA o que nos leva a inferir uma resposta sistêmica na planta resistente, pois até 90 DAI a expressão na planta suscetível limitou-se apenas ao meristema.

Palavras-Chave: proteína relacionada a patogênese-10, vassoura de bruxa, expressão diferencial.

Agência Financiadora: Cirad, CNPq and FAPESB.